昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*, March 2007, 50(3): 286 – 296　　ISSN 0454-6296

昆虫病原线虫资源概况和分类技术进展

丘雪红[1,2]，**韩日畴**[1,*]

（1. 广东省昆虫研究所，广州　510260；2. 中山大学生命科学学院，广州　510275）

摘要：昆虫病原线虫是具有重要潜在应用价值的害虫生物防治资源，主要包括斯氏线虫科（Steinernematidae）的斯氏线虫属 *Steinernema* 与新斯氏线虫属 *Neosteinernema* 线虫和异小杆线虫科（Heterorhabditidae）的异小杆线虫属 *Heterorhabditis* 线虫。近 10 年来，分子生物学方法与传统的形态学方法相结合应用到线虫的鉴定与分类，昆虫病原线虫的分类进入稳定与发展时期，越来越多的新种或品系被发现及应用于生物防治。目前已描述的昆虫病原线虫种类达 65 种，其中斯氏线虫属 52 种，新斯氏线虫属 1 种，异小杆线虫属 12 种。本文整理列出了迄今报道的昆虫病原线虫种类及其来源，并综述了昆虫病原线虫分类现状以及鉴定与分类方法上的研究进展，重点阐述了分子生物学技术在昆虫病原线虫鉴定与分类的应用状况。

关键词：昆虫病原线虫；分类；鉴定；分子生物学方法

中图分类号：Q965　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2007)03-0286-11

Entomopathogenic nematodes and advances in taxonomic techniques

QIU Xue-Hong[1,2], HAN Ri-Chou[1,*] (1. Guangdong Entomological Institute, Guangzhou 510260, China; 2. School of Life Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Entomopathogenic nematodes in the families Steinernematidae and Heterorhabditidae are potential biological control agents against pest insects, of which Steinernematidae is represented by the genera *Steinernema* and *Neosteinernema*, and Heterorhabditidae by the genus *Heterorhabditis*. Over the past decade, new technologies (especially molecular methods) have been incorporated into the traditional morphological approaches in identification and diagnosis of entomopathogenic nematodes. The entomopathogenic nematode systematics has come into a phase of stability and growth. More and more newly discovered nematode species/isolates have been used into the biological control of pests. At present, there are 65 recognized named species of entomopathogenic nematodes in the two families, with 52 species in *Steinernema*, 1 species in *Neosteinernema* and 12 species in *Heterorhabditis*. This paper lists the species of entomopathogenic nematodes and their sources, and reviews the advance in the taxonomic status and the taxonomic techniques of entomopathogenic nematodes, with emphasis on the molecular methods.

Key words: Entomopathogenic nematodes; classification; identification; molecular methods

昆虫病原线虫是一类体内携带共生细菌的昆虫寄生性线虫，该类线虫作为国际上新型的生物杀虫剂，具有寄主范围广泛；对脊椎动物、植物以及其他非靶标生物安全，对环境没有副作用；易于进行活体或离体大量培养，使用方便；能主动寻找寄主，快速杀死害虫（48 h 内）；在环境中能循环利用，能与多种化学和生物杀虫剂混用等优点（Kaya，1993；Kaya and Gaugler，1993；Hazir *et al*.，2003）；在防治多种土壤害虫和隐蔽害虫方面发挥了重要的作用（Klein，1990；Kaya and Gaugler，1993；Georgis and Manweiler，1994；Gaugler，2002；Shapiro-Ilan *et al*.，2002；Hazir *et al*.，2003），受到科学和产业界高度重视（Gaugler，2002；Stock，2005；Kaya *et al*.，2006）。近十几年来，昆虫病原线虫的研究进展迅速，目前全球已有跨越了 60 个国家的 100 多个实验室在研究此类有益生物（Stock，2005）。随着分类与鉴定技术

基金项目：广东省农业攻关计划项目（2005B20501008）；广东省科学院分析测试基金项目

作者简介：丘雪红，女，1977 年 12 月生，广东阳山人，博士研究生，助理研究员，主要从事昆虫、昆虫病原线虫及其共生菌的分子生物学研究，E-mail：qiuxuehong77@sohu.com

* **通讯作者** Author for correspondence, E-mail：richou-han@163.net

收稿日期 Received：2006-08-07；**接受日期** Accepted：2006-12-15

的发展与完善，新描述的种类及品系日益增加，这促进了昆虫病原线虫在害虫生物防治中的应用。

在生物防治中，害虫及其生防因子的正确鉴定是首要的，直接影响到生物防治的成功与否（Lacey *et al*.，2001；Stock and Hunt，2005）。昆虫病原线虫的寄主特异性较高，不同的种、甚至不同的品系会对相同的目标昆虫产生不同的防治效果，相同的种或品系对不同的害虫防效也不同（Bedding *et al*.，1983）。在昆虫病原线虫的应用中，最适宜线虫种类或品系的选择是获得成功防治的关键（Bedding and Miller，1981；Georgis and Gaugler，1991）。因此，昆虫病原线虫的分类对于线虫的商业化生产、质量监控及其在害虫控制等应用方面都具有十分重要的意义。本文综述了昆虫病原线虫分类现状以及鉴定与分类方法的研究进展，重点阐述了分子生物学技术在昆虫病原线虫鉴定与分类的应用状况。

1 分类和资源概况

1.1 分类现状

昆虫病原线虫隶属于动物界线虫动物门（Nematoda），尾感器纲（Secernentea），小杆目（Rhabditida），包括斯氏线虫科（Steinernematidae）和异小杆线虫科（Heterorhabditidae）。早期，昆虫病原线虫的分类鉴定主要依据形态学特征，但形态学特征易受多种因素影响，变异较大，难以把握，因此分类状况比较混乱。近 10 年来，生物技术的飞速发展为昆虫病原线虫的分类提供了新的工具和手段。形态学方法与分子生物学技术的结合，使昆虫病原线虫的分类学研究发生了重大的变化：种类描述的标准化（Hominick *et al*.，1997），学名的订正（Hominick *et al*.，1997；Adams and Nguyen，2002），亲缘关系的明晰（Blaxter *et al*.，1998），理论和应用的种类概念的提出（Adams，1998，2001），线虫动物门最新分类法的提出（de Ley and Blaxter，2002），这些促使了昆虫病原线虫的分类进入稳定与发展的时期（Hazir *et al*.，2003；Adams *et al*.，2006）。

Steiner（1923）描述了第一个昆虫病原线虫 *Aplectana kraussei* Steiner，Travassos（1927）将属名改为斯氏线虫属 *Steinerna*。2 年后，Steiner（1929）建立了以 *Neoaplectana glaseri* 为代表种的新线虫属 *Neoaplectana*。Filipjev（1934）把此二属归入斯氏线虫亚科（Steinernematinae），并提出二属很可能实为同属异名。后来，Chitwood 和 Chitwood（1937）将斯氏线虫亚科提升到斯氏线虫科（Steinernematidae）。Wouts 等（1982）通过电镜扫描成虫头部，提出新线虫属是斯氏线虫属的异名。Nguyen 和 Smart（1994）从白蚁中采到新种 *Neosteinernema longicurvicauda*，建立了斯氏线虫科的一个新属—新斯氏线虫属 *Neosteinernema*。目前，斯氏线虫科包括两个属，即斯氏线虫属 *Steinernema* 和新斯氏线虫属 *Neosteinernema*。随着分子生物技术的发展及其在昆虫病原线虫分类鉴定上的应用，新描述的种类日益增多，特别是近几年新种类描述快速增长。据 Adams 和 Nguyen（2002）统计，截至 2000 年底所描述的斯氏线虫属共有 25 个种，而 2001 – 2006 年期间所描述的新种就达 27 种。据最新统计，斯氏线虫科已描述的确定种总共 53 个，其中斯氏线虫属占 52 种，而新斯氏线虫属只有 1 个种 *N*. *longicurvicauda*（表 1）。

异小杆线虫科（Heterorhabditidae）是 Poinar（1976）建立的，创立时只含有一个属——异小杆线虫属 *Heterorhabditis*，代表种是 *H*. *bacteriophora*。与斯氏线虫属相比，异小杆线虫属的已知种类相对比较少。根据 Adams 和 Nguyen（2002）等统计，该属有 9 个种，但 *H*. *argentinensis* 与 *H*. *bacteriophora*，*H*. *hawaiiensis* 与 *H*. *indica* 实为同种异名，因此当年 Adams 和 Nguyen 统计的异小杆线虫属的种类实际上只有 7 个。自 2002 年起，该属增加了 4 个新种：*H*. *downesi*（Stock *et al*.，2002），*H*. *baujardi*（Phan *et al*.，2003），*H*. *mexicana*（Nguyen *et al*.，2004），*H*. *floridensis*（Nguyen *et al*.，2006a）。加上 Adams 和 Nguyen（2002）漏计的种 *H*. *taysearae*（Shamseldean *et al*.，1996），目前异小杆线虫属总共有 12 个种（表 1）。然而，*H*. *brevicaudis* 和 *H*. *poinari* 由于缺乏完整的形态、分子和杂交依据，其分类地位仍需进一步确认（Adams and Nguyen，2002；Stock and Hunt，2005；Adams *et al*.，2006）。

1.2 我国的昆虫病原线虫资源现状

我国幅员广阔，地理环境复杂，具有丰富的昆虫病原线虫资源。然而据统计，2003 年前我国报道的昆虫病原线虫新种只有 4 种：*S*. *longicaudum*（沈长朋和王国汉，1991），*S*. *caudatum*（许再福等，1991），*H*. *brevicaudis*（刘杰，1994），*S*. *ceratophorum*（Jian *et al*.，1997）。在线虫分类鉴定方面我国仍远远落后于欧美等国家（丘雪红等，2003），对我国昆虫病原线虫资源的地理分布情况也了解不够（Hominick，2002）。近几年，科学家对我国的昆虫病原线虫进行了系统的调查研究，发现了 200 多种昆虫寄生线虫

样品（Qiu *et al*.，2005b），并在昆虫病原线虫的分类方面取得了一定的进展。2003 – 2006年期间我国发现并鉴定的新种达8种：*S*. *websteri*（Cutler and Stock，2003），*S*. *guangdongense*（Qiu *et al*.，2004），*S*. *akhursti*（Qiu *et al*.，2005a），*S*. *beddingi*（Qiu *et al*.，2005b），*S*. *aciari*（Qiu *et al*.，2005c），*S*. *sichuanense*（Mráček *et al*.，2006），*S*. *leizhouense*（Nguyen *et al*.，2006b），*S*. *hebeiense*（Chen *et al*.，2006）；在鉴定技术与分类方法上也逐渐跟上世界前沿。

表1 已知昆虫病原线虫的种类和来源

Table 1 Described species of entomopathogenic nematode species and their sources

序号 No.	种类 Species	采集地 Locality	线虫来源 Source	文献 References
1	*Steinernema abbasi*	阿曼 Oman	土壤 Soil	Elawad *et al*., 1997
2	*S*. *aciari*	中国广东 Guangdong，China	土壤 Soil	Qiu *et al*.，2005c
3	*S*. *affine*（Bovien，1937）	丹麦 Denmark	毛蚊科昆虫 Bibionidae	Wouts *et al*.，1982
4	*S*. *akhursti*	中国云南 Yunnan，China	土壤 Soil	Qiu *et al*.，2005a
5	*S*. *anatoliense*	土耳其 Turkey	土壤 Soil	Hazir *et al*.，2003
6	*S*. *apuliae*	意大利 Italy	土壤 Soil	Triggiani *et al*.，2004
7	*S*. *arenarium*（Artyukhovsky，1967）	俄罗斯 Russia	土壤 Soil	Wouts *et al*.，1982
8	*S*. *ashiuense*	日本 Japan	土壤 Soil	Phan *et al*.，2006
9	*S*. *asiaticum*	巴基斯坦 Pakistan	土壤 Soil	Anis *et al*.，2002
10	*S*. *beddingi*	中国云南 Yunnan，China	土壤 Soil	Qiu *et al*.，2005b
11	*S*. *bicornutum*	南斯拉夫 Yugoslavia	土壤 Soil	Tallosi *et al*.，1995
12	*S*. *carpocapsae*（Weiser，1955）	捷克斯洛伐克 Czechoslovakia	苹果小卷蛾 *Cydia pomonella*	Wouts *et al*.，1982
13	*S*. *caudatum*	中国广东 Guangdong，China	土壤 Soil	许再福等，1991
14	*S*. *ceratophorum*	中国辽宁 Liaoning，China	土壤 Soil	Jian *et al*.，1997
15	*S*. *cubanum*	古巴 Cuba	土壤 Soil	Mrácek *et al*.，1994
16	*S*. *diaprepesi*	美国 USA	蔗根非耳象 *Diaprepes abbreviatus*	Nguyen and Duncan，2002
17	*S*. *feltiae*（Filipjev，1934）	丹麦 Denmark	毛蚊科昆虫 Bibionidae	Wouts *et al*.，1982
18	*S*. *glaseri*（Steiner，1929）	美国 USA	日本金龟子 *Popillia japonica*	Wouts *et al*.，1982
19	*S*. *guangdongense*	中国广东 Guangdong，China	土壤 Soil	Qiu *et al*.，2004
20	*S*. *hebeiense*	中国河北 Hebei，China	土壤 Soil	Chen *et al*.，2006
21	*S*. *hermaphroditum*	印度尼西亚 Indonesia	土壤 Soil	Stock *et al*.，2004
22	*S*. *intermedium*（Poinar，1985）	美国 USA	土壤 Soil	Mamiya，1988
23	*S*. *jollieti*	美国 USA	土壤 Soil	Spiridonov *et al*.，2004
24	*S*. *karii*	肯尼亚 Kenya	土壤 Soil	Waturu *et al*.，1997
25	*S*. *khoisanae*	南非 South Africa	土壤 Soil	Nguyen *et al*.，2006c
26	*S*. *kraussei*（Steiner，1923）	德国 Germany	云杉腮扁叶蜂 *Cephalcia abietis*	Travassos，1927
27	*S*. *kushidai*	日本 Japan	古铜异丽金龟 *Anomala cuprea*	Mamiya，1988
28	*S*. *leizhouense*	中国广东 Guangdong，China	土壤 Soil	Nguyen *et al*.，2006b
29	*S*. *litorale*	日本 Japan	土壤 Soil	Yoshida，2004
30	*S*. *loci Phan*	越南 Vietnam	土壤 Soil	Nguyen and Moens，2001
31	*S*. *longicaudum*	中国山东 Shandong，China	土壤 Soil	沈长朋和王国汉，1991
32	*S*. *monticolum*	韩国 Korea	土壤 Soil	Stock *et al*.，1997
33	*S*. *neocurtillae*	美国 USA	六刺短蝼蛄 *Neocurtilla hexadactyla*	Nguyen and Smart，1992
34	*S*. *oregonense*	美国 USA	土壤 Soil	Liu and Berry，1996b
35	*S*. *pakistanense*	印度尼西亚 Indonesia	土壤 Soil	Shahina *et al*.，2001
36	*S*. *puertoricense*	波多黎哥 Puerto Rico	土壤 Soil	Roman and Figueroa，1994
37	*S*. *rarum*（de Doucet，1986）	阿根廷 Argentina	土壤 Soil	Mamiya，1988

续表 1 Table 1 continued

序号 No.	种类 Species	采集地 Locality	线虫来源 Source	文献 References
38	*S. riobrave*	美国 USA	美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea*	Cabanillas *et al*., 1994
39	*S. ritteri*	阿根廷 Argentina	土壤 Soil	de Doucet and Doucet, 1990
40	*S. robustispiculum*	越南 Vietnam	土壤 Soil	Phan *et al*., 2005
41	*S. sangi*	越南 Vietnam	土壤 Soil	Phan *et al*., 2001
42	*S. scapterisci*	乌拉圭 Uruguay	屋边双蝼蛄 *Scapteriscus vicinus*	Nguyen and Smart, 1990
43	*S. scarabaei*	美国 USA	东方异丽金龟 *Anomala orientalis* 日本金龟子 *Popillia japonica*	Stock and Koppenhǒfer, 2003
44	*S. siamkayai*	泰国 Thailand	土壤 Soil	Stock *et al*., 1998
45	*S. sichuanense*	中国四川 Sichuan, China	土壤 Soil	Mráček *et al*., 2006
46	*S. silvaticum*	德国 Germany	土壤 Soil	Sturhan *et al*., 2005
47	*S. tami*	越南 Vietnam	土壤 Soil	Luc *et al*., 2000
48	*S. thanhi*	越南 Vietnam	土壤 Soil	Phan *et al*., 2001
49	*S. thermophilum*	印度 India	土壤 Soil	Ganguly and Singh, 2000
50	*S. websteri*	中国北京 Beijing, China	土壤 Soil	Cutler and Stock, 2003
51	*S. weiseri*	捷克 Czech Republic	土壤 Soil	Mrácek *et al*., 2003
52	*S. yirgalemense*	埃塞俄比亚 Ethiopia	土壤 Soil	Nguyen *et al*., 2004
53	*Neosteinernema longicurvicauda*	美国 USA	黄肢散白蚁 *Reticulitermes flavipes*	Nguyen and Smart, 1994
54	*Heterorhabditis bacteriophora*	澳大利亚 Australia	实夜蛾 *Heliothis punctigera*	Poinar, 1976
55	*H. baujardi*	越南 Vietnam	土壤 Soil	Phan *et al*., 2003
56	*H. brevicaudis* *	中国福建 Fujian, China	土壤 Soil	刘杰, 1994
57	*H. downesi*	爱尔兰 Ireland	土壤 Soil	Stock *et al*., 2002
58	*H. floridensis*	美国佛罗里达 Florida, USA	土壤 Soil	Nguyen *et al*., 2006a
59	*H. indica*	印度 India	暗星象甲 *Scirpophaga excerptalis*	Poinar *et al*., 1992
60	*H. marelatus*	美国 USA	土壤 Soil	Liu and Berry, 1996a
61	*H. megidis*	美国 USA	日本金龟子 *Popillia japonica*	Poinar *et al*., 1987
62	*H. mexicana*	墨西哥 Mexico	土壤 Soil	Nguyen *et al*., 2004
63	*H. poinari* *	美国 USA	土壤 Soil	Kakulia and Mikaia, 1997
64	*H. taysearae*	埃及 Egypt	土壤 Soil	Shamseldean *et al*., 1996
65	*H. zealandica*	新西兰 New Zealand	非洲独角仙 *Heteronychus arator*	Poinar, 1990

* ：需进一步确认的种类 Species to be confirmed.

2 分类方法

线虫正确与快速的鉴定诊断需要适合的分类鉴定方法。昆虫病原线虫的分类和鉴定方法主要有传统的形态学分类法（Poinar，1990），结合杂交法（Akhurst and Bedding，1978；张振英和刘南欣，1990；Dix *et al*.，1992），同工酶电泳分析法（沙槎云，1985；Akhurst，1987；Poinar and Kozodoic，1988）和分子生物学分析法（Reid and Hominick，1992；Gardaner *et al*.，1994；Joyce *et al*.，1994；Adams *et al*.，1998；Nguyen *et al*.，2001）等。

2.1 形态分类法

依据形态学特征的传统分类方法，主要对线虫的一些重要分类特征进行分析，如体长、头到神经环的距离、头到排泄孔的距离、雄虫交合刺和引带形态特征等。形态特征比较直观，容易得到，此方法是长期以来形成的比较系统的分类与鉴定方法，在新种描述中，形态分类法是必不可少的。然而，由于寄主营养、培养温度、感染期线虫收获时间等的不同，往往使得同种的不同品系或个体的形态特征也可能产生较大差异。而且，不同种类的昆虫病原线虫，特别是异小杆线虫的形态，看起来很相似，不是线虫分类专家就很难分辨它们。另外，仅凭形态特征很难断

定线虫之间亲缘关系（Adams *et al*.，2006；Nadler *et al*.，2006）。因此，形态分类应用起来就显得比较困难，一般需要结合其他方法才能准确确定种群的分类地位（Curran，1989；Poinar，1990；Adams and Nguyen，2002；Adams *et al*.，2006）。

2.2 结合杂交法

Akhurst 和 Bedding（1978）曾试图利用杂交方法对昆虫病原线虫进行分类和鉴定。但是，由于异小杆线虫在进入寄主体内后即发育成雌雄同体的大母虫，因而很难采用杂交方法鉴定该属线虫的种类。不过，在斯氏线虫属的种类鉴定方面，不少学者一直都认为杂交方法是一个较准确简便的方法，并乐于采用（Akhurst and Bedding，1978；张振英和刘南欣，1990）。后来，发现在斯氏线虫属个别线虫种中也存在雌雄同体的现象（Griffin *et al*.，2001），这给杂交工作带来更大的困难。虽然比较耗时、费力，但如果能够准确分辨雌雄同体的线虫及其雌雄异体的龄期（Johnigk and Ehlers，1999），杂交方法仍是昆虫病原线虫分类的重要辅助手段，不少研究者将它应用于新种鉴定（Dix *et al*.，1992；Cutler and Stock，2003；Yoshida，2004；Phan *et al*.，2005；Qiu *et al*.，2005a，2005b，2005c）。

2.3 同工酶电泳法

同工酶电泳是一种费用较低而又比较有效的分类鉴定方法。在上世纪 80 年代中后期，已有学者将同工酶电泳应用到昆虫病原线虫的分类研究中（沙槎云，1985；Akhurst，1987；Poinar and Kozodoic，1988）。它适合用于种水平的分类鉴定，特别是同属的种类鉴定，但不适合属水平以上以及亚种水平以下的分类鉴定（Akhurst，1987）。同时，同工酶具组织和发育的特异性，不同组织和不同发育时期，同工酶的种类和数量也会不同。另外，同功酶易失活，电泳谱带易受凝胶浓度、提取液配方、电泳程序等影响。

2.4 分子生物学分析法

近 10 多年来，生物技术的飞速发展为昆虫病原线虫的分类鉴定提供了新的工具和手段。以 DNA 为基础的分子生物学技术不依赖于基因组的表达产物，不受环境与线虫生活周期的影响，因而是一种稳定、可靠且快速的分类鉴定方法。目前，用于昆虫病原线虫的分类和鉴定的分子技术主要有限制性片段长度多态性（RFLP）、随机扩增多态性（RAPD）、卫星 DNA 探针、扩增片段长度多态性（AFLP）、DNA 序列分析等。这些技术具有不同的适用性。

2.4.1 RFLP：RFLP 是指 DNA 经限制性内切酶完全酶解后，产生的限制片段长度多态性。限制性内切酶和 PCR-RFLP 是鉴定斯氏线虫科和异小杆线虫科十分有用的工具（Reid and Hominick，1992；Reid *et al*.，1997；Anis *et al*.，2000；Hussaini *et al*.，2001；Phan *et al*.，2001）。这方法既可以作为分类鉴定工具应用（Joyce *et al*.，1994；Nasmith *et al*.，1996；Stack *et al*.，2000），也可以用作新种鉴定时的补充依据（Stock *et al*.，1998；Luc *et al*.，2000；Phan *et al*.，2001），另外还被用于阐明昆虫病原线虫间的进化关系（Reid，1994；Reid *et al*.，1997）。

尽管敏感度不如 DNA 测序，信息量也少于 DNA 序列，但以限制性内切酶消化核糖体 DNA 的内部转录间隔区的 PCR 扩增产物（rDNA ITS PCR-RFLP）也是替换 DNA 测序的一个快速方法。用于昆虫病原线虫的种类鉴定时，ITS PCR-RFLP 方法比 RAPD、AFLP 和卫星 DNA 探针等方法更具优越性（Reid *et al*.，1997）。目前，昆虫病原线虫的一些种类的 ITS 区域的限制片段图谱已建立，方便使用（Joyce *et al*.，1994；Nasmith *et al*.，1996；Reid *et al*.，1997；Pamjav *et al*.，1999；Stack *et al*.，2000；李菁菁等，2002；丘雪红等，2003）。Hominick 等（1997）提出了鉴定昆虫病原线虫的 PCR-RFLP 方法，通过 PCR 扩增和限制性内切酶消化可以做到对单条线虫的分类鉴定，快速简单。

然而，当应用此方法时仍需要注意的是即使用于大片段或整个基因组，不同的限制性内切酶产生多态性的效率是不同的（Whitkus *et al*.，1994）。缺少酶切位点同源性的先验知识，图谱的解释也是复杂或是容易令人误解的（Hillis *et al*.，1996）。

2.4.2 RAPD：RAPD 是特异 PCR 技术的进一步发展，起初作为有利的补充技术应用于昆虫病原线虫的新种鉴定（Gardner *et al*.，1994；Liu and Berry，1996a；Stock *et al*.，1996），也用于探究昆虫病原线虫种类和品系间的遗传多样性（Liu and Berry，1995，1996c；Hashmi *et al*.，1996；Hashmi and Gaugler，1998；周燚等，2002），分析线虫的系统进化关系（Liu and Berry，1996c），还成功用于检测异小杆属线虫不同种群的近亲繁殖情况（Shapiro *et al*.，1997）。该技术不需要预先知道 DNA 序列就可以把 DNA 序列的差异检测出来，可同时对多个样品进行分析，所需要的 DNA 量也很少，用于分析种内差异时是一个有力的工具。但 RAPD 方法也有缺点，结果的重复性受多种因素如 DNA 的质量与浓度，PCR 循环条件

(包括 PCR 仪)等因素的影响,而且用 RAPD 标记很难划分种间与种内的界限(Adams and Nguyen, 2002; Adams *et al*., 2006)。

2.4.3　卫星 DNA 探针法:有些学者推荐用卫星 DNA 探针作为昆虫病原线虫分类鉴定的重要辅助工具(Grenier *et al*., 1995, 1996a, 1996b, 1997; Abadon *et al*., 1998)。这些探针能够快速测定所研究的类群属于已知类群中的哪一种。但它的敏感度比 rDNA ITS 数据低,而且阴性结果只能表示出样品对已知类群的不归属性。此外,卫星 DNA 不产生用于追溯系统进化关系的数据。

2.4.4　AFLP:与 RAPD 的信息含量相似,AFLP 也是一个有力的分子分类工具,它具有 RFLP 的稳定性和 PCR 技术的高效性。该技术避免了分子杂交的复杂操作程序,灵敏度高,多态性强,DNA 的用量少,重复性好,不需要预先知道基因组序列。AFLP 标记先被应用于其他线虫(Folkertsma *et al*., 1996; Semblatt *et al*., 1998; van der Beek *et al*., 1998),后来也用于研究昆虫病原线虫。Regeai 等(2004)试图用 AFLP 方法分析 *H. bacteriophora* 线虫不同品系间的遗传变异时发现,AFLP 标记可以用于区分异小杆线虫属的不同种类,但不能区分同种的不同品系。AFLP 方法最大的缺点是趋向于产生显性等位基因而不是共显性等位基因(Mueller and Wolfenbarger, 1999)。同时,与 AFLP 的高效性和可靠性伴随而来的是实验上的高费用和操作上的复杂性,它对 DNA 的纯度和内切酶质量的要求较高,需要严格的扩增条件,这些因素在很大程度上限制了 AFLP 的广泛应用(Adams and Nguyen, 2002)。

2.4.5　DNA 序列分析:研究 DNA 多态性的最直接和最有效的途径就是分析 DNA 序列,此方法已应用到线虫分类,并且比 RFLP 方法更能产生有关种间或种内差异的数据(Powers *et al*., 1997)。另外,DNA 序列分析法在不同分类水平评定亲缘关系方面是一个更加适合的方法(Powers *et al*., 1994; Hyman and Azevedo, 1996; Adams *et al*., 1998; Blaxter *et al*., 2000; Stock *et al*., 2001; Nguyen *et al*., 2001, 2004; Nadler *et al*., 2006),同时也是新种鉴定的一个有效方法(Adams *et al*., 1998; Stock *et al*., 2001; Nguyen *et al*., 2001, 2004; Stock and Koppenhŏfer, 2003)。

用于 DNA 序列分析的靶区域包括核酸基因和线粒体基因,核酸基因主要有核糖体 RNA 基因的 18S 或小亚基(SSU)基因,内转录间隔区(ITS)和 5.8S 基因,28S 或大亚基(LSU)基因;而线粒体基因主要有细胞色素氧化酶(COⅡ)-16S 基因、NADH 脱氢酶复合体亚基 ND4 基因。

鉴定未知线虫样品的最通用标记是 18S 或小核糖体亚基(SSU) rDNA,它适合于不同属间线虫的分类(Blaxter *et al*., 1998; Dorris *et al*., 1999)。然而,18S 标记由于过于保守而不能可靠地体现所有异小杆线虫属种类间(Liu *et al*., 1997)或斯氏线虫属种类间的亲缘关系(Stock *et al*., 2001)。

针对异小杆线虫和斯氏线虫选择的分子标记是核糖体 DNA 的内转录间隔区(rDNA ITS)。这个标记能显示出异小杆线虫属和斯氏线虫属内种间的实质变异(Adams *et al*., 1998; Nguyen *et al*., 2001),并且在公共 DNA 序列数据库中具有很好的代表性。其中 ITS-1 区域有足够的遗传变异区分异小杆线虫属的不同种类,也是分析种间进化关系很有价值的标记(Adams *et al*., 1998)。ITS-1 和 ITS-2 区域,包括 rDNA 的 5.8S 基因也被用于斯氏线虫属部分种类的亲缘关系分析和新种鉴定(Nguyen *et al*., 2001)。对于斯氏线虫属线虫,ITS 只可以用于分析亲缘关系比较接近的种类(Stock *et al*., 2001),但是,要推断本属的所有种类之间的关系时则变异性过高。

核糖体大亚基(LSU)已用于分析斯氏线虫属种间的亲缘关系(Stock *et al*., 2001)。在此研究中,28S rDNA 证实是阐明斯氏线虫属线虫进化关系的一个适合、能提供有价值信息的区域。这个区域也是斯氏线虫属界定终端分类单元和分类鉴定的一个有效并可靠的方法(Stock *et al*., 2001; Stock and Koppenhŏfer, 2003)

可鉴定到种水平的基因座还有细胞色素氧化酶(COⅡ)-16S 线粒体基因(Szalanski *et al*., 2000)和 ND4 线粒体基因(Liu *et al*., 1999)。这些基因座在种间水平上发生变异,可以有效区分斯氏线虫属线虫的不同种类。然而,其种内水平的差异数据有限或还未获得。

3　结语

随着生物技术的发展与完善,昆虫病原线虫的分类方法与鉴定技术日趋深入与完善,分类系统趋于完善与准确。然而单靠某一种方法进行种类鉴定是不完善的,新种的确定往往需要依据形态学、分子生物学、细胞学等多项方法综合分析。虽然分子生物技术能为昆虫病原线虫的分类提供大量的客观数

据，并在分类鉴定中发挥了重大的作用，但分子方法不能代替形态学方法（Adams *et al*.，2006）。研究表明，形态学方法与分子生物学方法相结合才能赋予昆虫病原线虫分类系统最可靠最有力的依据（Kluge，1998，2004）。在进行昆虫病原线虫的分类鉴定时，应视具体情况灵活掌握，将传统的形态鉴定方法、现代生化方法与分子标记技术相结合，充分发挥综合技术优势，从而达到准确、快速、经济检测的目的。

参考文献（References）

Abadon M，Grenier E，Laumond C，Abad P，1998. A species-specific satellite DNA from the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis indicus*. *Genome/Génome*，41（2）：148－153.

Adams BJ，1998. Species concepts and the evolutionary paradigm in modern nematology. *J. Nematol*.，30（1）：1－21.

Adams BJ，2001. The species delimitation uncertainty principle. *J. Nematol*.，33（2）：153－160.

Adams BJ，Burnell AM，Powers TO，1998. A phylogenetic analysis of *Heterorhabditis*（Nemata：Rhabditidae）based on internal spacer 1 DNA sequence data. *J. Nematol*.，30（1）：22－39.

Adams BJ，Fodor A，Koppenhöfer HS，Stackebrandt E，Stock SP，Klein MG，2006. Biodiversity and systematics of nematode-bacterium entomopathogens. *Biol. Control*，37（1）：32－49.

Adams BJ，Nguyen KB，2002. Taxonomy and systematics. In：Gaugler Red. Entomopathogenic Nematology. Wallingford：CAB International. 1－33.

Akhurst RJ，1987. Use of starch gel electrophoresis in the taxonomy of the genus *Heterorhabditis*（Nematoda：Heterorhabditidae）. *Nematologica*，33（1）：1－9.

Akhurst RJ，Bedding RA，1978. A simple cross-breeding technique to facilitate species determination in the genus *Neoaplectana*. *Nematoligica*，24（3）：328－330.

Anis M，Shahina F，Reid AP，Maqbool MA，2000. Redescription of *Heterorhabditis indica*，Poinar *et al*.，1992（Rhabditidae：Heterorhabditidae）from Pakistan. *Pak. J. Nematol*.，18（1）：11－27.

Anis M，Shahina F，Reid AP，Rowe J，2002. *Steinernema asiaticum* sp. n.（Rhabditida：Steinernematidae）from Pakistan. *Int. J. Nematol*.，12（2）：220－231.

Bedding RA，Miller LA，1981. Disinfecting blackcurrant cuttings of *Synantyedon tipuliformis*，using the insect parasitic nematode，*Neoaplectana bibionis*. *Environ. Entomol*.，10（4）：449－453.

Bedding RA，Molyneux AS，Akhurst RJ，1983. *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema kraussei*：interspecific and intraspecific differences in infectivity for insects. *Exp. Parasitol*.，55（2）：249－257.

Blaxter ML，de Ley P，Garey JR，Liu LX，Scheldeman P，Vierstraete A，van Xeteren JR，Mackey LY，Dorris M，Frisse LM，Vida JT，Thomas WK，1998. A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. *Nature*，392（1）：71－75.

Blaxter ML，Dorris M，de Ley P，2000. Patterns and processes in the evolution of animal parasitic nematodes. *Nematology*，2（1）：43－55.

Cabanillas HE，Poinar GOJr，Raulston JR，1994. *Steinernema riobravis* n. sp.（Rhabditida：Steinernematidae）from Texas. *Fundam. Appl. Nematol*.，17（2）：123－131.

Chen SL，Li XH，Yan AH，Spiridonov SE，Moens M，2006. A new entomopathogenic nematode，*Steinernema hebeiense* sp. n.（Rhabditida：Steinernematidae），from North China. *Nematology*，8（4）：563－574.

Chitwood BG，Chitwood MB，1937. An Introduction to Nematology. Maryland：Monumental Printing Company. 213 pp.

Curran J，1989. Chromosome numbers of *Steinernema* and *Heterohabditis* species. *Rev. Nematol*.，12（2）：145－148.

Cutler GC，Stock SP，2003. *Steinernema websteri* sp. n.（Rhabditida：Steinernematidae），a new entomopathogenic nematode from China. *Nematol. Medit*.，31（2）：215－224.

de Doucet MMA，Doucet ME，1990. *Steinernema ritteri* n. sp.（Nematoda：Steinernematidae）with a key to the species of the genus. *Nematologica*，36（3）：257－265.

de Ley P，Blaxter M，2002. Systematic position and phylogeny. In：Lee DL ed. The Biology of Nematodes. New York：Taylor and Francis. 1－30.

Dix H，Burnell AM，Griffin CT，Joyce SA，Nugent MJ，Downes MJ，1992. The identification of biological species in the genus *Heterorhabditis*（Nematoda：Heterorhabditidae）by crossbreeding second generation amphimictic adults. *Paraitology*，10（5）：509－518.

Dorris M，de Ley P，Blaxter ML，1999. Molecular analysis of nematode diversity and the evolution of parasitism. *Parasitol. Today*，15（5）：188－193.

Elawad S，Ahmad W，Reid AP，1997. *Steinernema abbasi* sp. n.（Nematoda：Steinernematidae）from the Sultanate of Oman. *Fundam. Appl. Nematol*.，20（5）：435－442.

Filipjev IN，1934. The classification of the free-living nematodes and their relations to parasitic nematodes. *Smithsonian Miscellaneous Collections*，89（1）：1－63.

Folkertsma RT，Rouppe van der Voort JN，de Groot KE，van Zandvoort PM，Schots A，Gommers FJ，Helder J，Bakker J，1996. Gene pool similarities of potato cyst nematode populations assessed by AFLP analysis. *Mol. Plant-Microbe Interact*.，9（1）：47－54.

Ganguly S，Singh LK，2000. *Steinernema thermophilum* sp. n.（Rhabditida：Steinernematidae）from India. *Int. J. Nematol*.，10（2）：183－191.

Gardner SL，Stock SP，Kaya HK，1994. A new species of *Heterorhabditis* from the Hawaiian Islands. *J. Parasitol*.，80（1）：100－106.

Gaugler R，2002. Entomopathogenic Nematology. Wallingford：CAB International. 388 pp.

Georgis R，Gaugler R，1991. Predictability in biological control using entomopathogenic nematodes. *J. Econ. Entomol*.，84（3）：713－720.

Georgis R，Manweiler SA，1994. Entomopathogenic nematodes：a developing biological control technology. *Agri. Zool. Rev*.，6（1）：63－94.

Grenier E，Laumond C，Abad P，1995. Characterization of a species-specific satellite DNA from the entomopathogenic nematodes *Steinernema*

carpocapsae. *Mol. Biochem. Parasitol.*，69(1)：93 – 100.

Grenier E，Laumond C，Abad P，1996a. Molecular characterization of two species-specific tandemly repested DNAs from entomopathogenic nematodes *Steinernema* and *Heterorhabditis* (Nematoda：Rhabditida). *Mol. Biochem. Parasitol.*，83(1)：47 – 56.

Grenier E，Bonifassi E，Abad P，Laumond C，1996b. Use of species-specific satellite DNAs as diagnostic probes in the identification of Steinernematidae and Heterorhabitidae entomopathogenic nematodes. *Parasitology*，113(5)：483 – 489.

Grenier E，Castagnone-Sereno P，Abad P，1997. Satellite DNA sequences as taxonomic markers in nematodes of agronomic interest. *Parasitol. Today*，13(10)：398 – 401.

Griffin CT，O'Callaghan KM，Dix I，2001. A self-fertile species of *Steinernema* from Indonesia：further evidence of convergent evolution amongst entomopathogenic nematodes？*Parasitology*，122(2)：181 – 186.

Hashmi G，Glazer I，Gaugler R，1996. Molecular comparisons of entomopathogenic nematodes using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Fundam. Appl. Nematol.*，19(4)：399 – 406.

Hashmi G，Gaugler R，1998. Genetic diversity in insect-parasitic nematodes (Rhabditida：Heterorhabditidae). *J. Invertebr. Pathol.*，72(3)：185 – 189.

Hazir S，Kaya HK，Stock SP，Keskin N，2003. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. *Turk. J. Biol.*，27(4)：181 – 202.

Hillis DM，Moritz C，Mable BK，1996. Molecular systematics. 2nd ed. Sunderland，Massachusetts：Sinauer Associates Press. 655 pp.

Hominick WM，2002. Biogeography. In：Gaugler R ed. Entomopathogenic Nematology. Wallingford：CAB International. 115 – 143.

Hominick WM，Briscoe BR，Del Pino FG，Heng JA，Hunt DJ，Kozodoy E，Mracek Z，Nguyen KB，Reid AP，Spiridonov S，Stock P，Sturhan D，Waturu C，Yoshida M，1997. Biosystematics of entomopathogenic nematodes：current status，protocols and definitions. *J. Helminthol.*，71(4)：271 – 298.

Hussaini SS，Ansari MA，Ahmad W，Subbotin SA，2001. Identification of some Indian populations of *Steinernema* species (Nematoda) by RFLP analysis of the ITS region of rDNA. *Int. J. Nematol.*，11(1)：73 – 76.

Hyman H，Azevedo JLB，1996. Similar revolutionary patterning among repeated and single copy nematode mitochondrial genes. *Mol. Biol. Evol.*，13(1)：221 – 232.

Jian H，Reid AP，Hunt DJ，1997. *Steinernema ceratophorum* n. sp. (Nematoda：Steinernematidae)，a new entomopathogenic nematode from north-east China. *Syst. Parasitol.*，37(2)：115 – 125.

Johnigk SA，Ehlers RU，1999. Juvenile development and life cycle of *Heterorhabditis bacteriophora* and *H. indica*. *Nematology*，1(3)：251 – 260.

Joyce SA，Burnell AM，Powers TO，1994. Characterization of *Heterorhabditis* isolates by PCR amplification of segments of mtDNA and rDNA genes. *J. Nematol.*，26(3)：260 – 270.

Kakulia G，Mikaia N，1997. New species of the nematode *Heterorhabditis poinari* sp. nov. (Rhabditia，Heterorhabditidae) G. Kakulia *et* N. Mikaia. *Bull. Georgian Acad. Sci.*，155(3)：457 – 459.

Kaya HK，1993. Entomogenous and entomopathogenic nematodes in biological control. In：Evans K，Trudgill DL，Webster JM eds. Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. Wallingford：CAB International. 565 – 591.

Kaya HK，Aguillera MM，Alumai A，Choo HY，Torre MDL，Fodor A，Ganguly S，Hazir S，Lakatos T，Pye A，Wilson M，Yamanaka S，Yang H，Ehlers RU，2006. Status of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from selected countries or regions of the world. *Biol. Control*，38(1)：134 – 155.

Kaya HK，Gaugler R，1993. Entomopathogenic nematodes. *Ann. Rev. Entomol.*，38：181 – 206.

Klein MG，1990. Efficacy against soil-inhabiting insect pests. In：Gaugler R，Kaya HK eds. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. Boca Raton，FL：CRC Press. 195 – 214.

Kluge AG，1998. Total evidence or taxonomic congruence：cladistics or consensus classification. *Cladistics*，14(2)：151 – 158.

Kluge AG，2004. On total evidence：for the record. *Cladistics*，20(3)：205 – 207.

Lacey LA，Frutos R，Kaya HK，Vails P，2001. Insect pathogens as biological control agents：do they have a future？*Biol. Control*，21(3)：230 – 248.

Li JJ，Han RC，Cao L，Liu XL，Peng TX，Li LY，2002. Molecular identification of entomopathogenic nematode species (*Steinenerma* and *Heterorhabditis*) by RFLP transcribed spacer (ITS) region. *Natural Enemies of Insects*，24(3)：97 – 104. **[李菁菁，韩日畴，曹莉，刘秀玲，彭统序，李丽英，**2002. ITS-RFLP **分析进行昆虫病原线虫斯氏属和异小杆属的分类鉴定. 昆虫天敌，**24(3)：97 – 104**]**

Liu J，1994. A new species of *Heterorhabditis* (Rhabditida：Heterorhabditidae) from China. *Acta Zootaxonomica Sinica*，19(3)：268 – 272. **[刘杰，**1994. **中国异小杆线虫属一新种(小杆目：异小杆线虫科). 动物分类学报，**19(3)：268 – 272**]**

Liu J，Berry RE，1995. Differentiation of isolates in the genus *Steinernema* (Nematoda：Steinernematidae) by random amplified polymorphic DNA fragments and morphological characters. *Parasitology*，111(1)：119 – 125.

Liu J，Berry RE，1996a. *Heterorhabditis marelatus* n. sp. (Rhabditida：Heterorhabditidae) from Oregon. *J. Invertebr. Pathol.*，67(1)：48 – 54.

Liu J，Berry RE，1996b. *Steinernema oregonensis* n. sp. (Rhabditida：Steinernematidae) from Oregon，USA. *Fundam. Appl. Nematol.*，19(4)：375 – 380.

Liu J，Berry RE，1996c. Phylogenetic analysis of the genus *Steinernema* by morphological characters and randomly amplified polymorphic DNA fragments. *Fundam. Appl. Nematol.*，19(5)：463 – 469.

Liu J，Berry RE，Blouin MS，1999. Molecular differentiation and phylogeny of entomopathogenic nematodes (Rhabditida：Heterorhabditidae) based on ND4 gene sequences of mitochondrial DNA. *J. Parasitol.*，85(4)：709 – 715.

Liu J，Berry RE，Moldenke AF，1997. Phylogenetic relationships of entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae) inferred from partial 18S rRNA gene sequences. *J. Invertebr.*

Pathol.，69（3）：246 – 252.

Luc VP，Ngugen KB，Reid AP，Spiridonov SE，2000. *Steinernema tami* sp. n.（Rhabditida：Steinernematidae）from Cat Tien Forest，Vietanam. *Russ*. *J*. *Nematol*.，8（1）：33 – 43.

Mamiya Y，1988. *Steinernema kushidai* n. sp.（Nematoda：Steinernematidae）associated with scarabaeid beetle larvae from Shizuoka，Japan. *Appl*. *Entomol*. *Zool*.，23（3）：313 – 320.

Mrácek Z，Hernadez EA，Boemare NE，1994. *Steinernema cubana* sp. n.（Nematoda：Rhabditida：Steinernematidae）and the preliminary characterization of its associated bacterium. *J*. *Invertebr*. *Pathol*.，64（2）：123 – 129.

Mrácek Z，Sturhan D，Reid A，2003. *Steinernema weiseri* n. sp.（Rhabditida，Steinernematidae），a new entomopathogenic nematode from Europe. *Syst*. *Parasitol*.，56（1）：37 – 47.

Mráček Z，Nguyen KB，Tailliez P，Boemare N，Chen S，2006. *Steinernema sichuanense* n. sp.（Rhabditida，Steinernematidae），a new species of entomopathogenic nematode from the province of Sichuan，east Tibetan Mts.，China. *J*. *Invertebr*. *Pathol*.，93（3）：157 – 169.

Mueller UG，Wolfenbarger LL，1999. AFLP genotyping and fingerprinting. *Trends Ecol*. *Evol*.，14（10）：389 – 394.

Nadler SA，Bolotin E，Stock SP，2006. Phylogenetic relationships of *Steinernema* Travassos，1927（Nematoda：Cephalobina：Steinernematidae）based on nuclear，mitochondrial and morphological data. *Syst*. *Parasitol*.，63（3）：161 – 181.

Nasmith CG，Speranaini D，Jeng R，Hubbes M，1996. RFLP analysis of PCR amplified ITS and 26S ribosomal RNA genes of selected entomopathogenic nematodes（Steinernematidae，Heterorhabditidae）. *J*. *Nematol*.，28（1）：15 – 25.

Nguyen KB，Smart GC，1990. *Steinernema scapterisci* n. sp.（Rhabditida：Steinernematidae）. *J*. *Nematol*.，22（2）：187 – 199.

Nguyen KB，Smart GC，1992. *Steinernema neocurtillis* n. sp.（Rhabditida：Steinernematidae）and a key to species of the genus *Steinernema*. *J*. *Nematol*.，24（4）：463 – 477.

Nguyen KB，Smart GC，1994. *Neosteinernema longicurvicauda* n. gen.，n. sp.（Rhabditida：Steinernematidae），a parasite of the termite *Reticulitermes flavipes*（Koller）. *J*. *Nematol*.，26（2）：162 – 174.

Nguyen KB，Maruniak J，Adams BJ，2001. Diagnostic and phylogenetic utility of the rDNA internal transcribed spacer sequence of *Steinernema*. *J*. *Nematol*.，33（2 – 3）：73 – 82.

Nguyen KB，Duncan LW，2002. *Steinernema diaprepesi* n. sp.（Rhabditida：Steinernematidae），a parasite of the citrus root weevil *Diaprepes abbreviatus*（L.）（Coleoptera：Curculionidae）. *J*. *Nematol*.，34（2）：159 – 170.

Nguyen KB，Shapiro-Ilan DI，Stuart RJ，McCoy CW，James RR，Adams BJ，2004. *Heterorhabditis mexicana* n. sp.（Rhabditida：Heterorhabditidae）from Tamaulipa，Mexico，and morphological studies of the bursa of *Heterorhabditis* spp. *Nematology*，6（2）：231 – 244.

Nguyen KB，Tesfamariam M，Gozel U，Gaugler R，Adams BJ，2004. *Steinernema yirgalemense* n. sp.（Rhabditida：Steinernematidae）from Ethiopia. *Nematology*，6（6）：839 – 856.

Nguyen KB，Gozel U，Köppenhöfer HS，Adams BJ，2006a. *Heterorhabditis floridensis* n. sp.（Rhabditida：Heterorhabditidae）from Florida. *Zootaxa*，1 177（1）：1 – 19.

Nguyen KB，Qiu L，Zhou Y，Pang Y，2006b. *Steinernema leizhouense* sp. n.（Nematoda：Steinernematidae），a new entomopathogenic nematode from southern China. *Russ*. *J*. *Nematol*.，14（2）：101 – 118.

Pamjav H，Triga D，Buzas Z，Vellai T，Lucskai A，Adams B，Reid AP，Burnell A，GriYn C，Glazer I，Klein MG，Fodor A，1999. Novel application of PhastSystem polyacrylamide gel patterns of individuals for molecular identification of entomopathogenic nematodes. *Electrophoresis*，20（6）：1 266 – 1 273.

Phan KL，Nguyen NC，Moens M，2001. *Steinernema loci* sp. n. and *Steinernema thanhi* sp. n.（Rhabditida：Steinernematidae）from Vietnam. *Nematology*，3（6）：503 – 514.

Phan KL，Subbotin S，Nguyen NC，Moens M，2003. *Heterorhabditis baujardi* sp. n.（Rhabditida：Heterorhabditidae）from Vietnam and morphometric data for *H*. *indica* populations. *Nematology*，5（3）：367 – 382.

Phan LK，Subbotin SA，Waeyenberge L，Moens M，2005. A new entomopathogenic nematode，*Steinernema robustispiculum* n. sp.（Rhabditida：Steinernematidae），from Chumomray National Park in Vietnam. *Syst*. *Parasitol*.，60（1）：23 – 32.

Poinar GOJr，1976. Description and biology of a new insect parasitic rhabditoid，*Heterorhabditis bacteriophora* n. gen. n. sp.（Rhabditida：Heterorhabditidae n. fam.）. *Nematologica*，21：463 – 470.

Poinar GOJr，Jackson T，Klein M，1987. *Heterorhabditis megidis* sp. n.（Heterorhabditidae：Rhabditida），parasitic in the Japanese beetle，*Popillia japonica*（Scarabaeidae：Coleoptera），in Ohio. *Proc*. *Helminthol*. *Soc*. *Wash*.，54（1）：53 – 59.

Poinar GOJr，Kozodoi EM，1988. *Neoaplectana glaseri* and *N*. *anomaly*：sibling species or parallelism. *Nev*. *Nematol*.，1（1）：13 – 19.

Poinar GOJr，1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditdae. In：Gaugler R，Kaya HK eds. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. Boca Raton：CRC Press. 23 – 61.

Poinar GOJr，Karunakar GK，David H，1992. *Heterorhabditis indicus* n. sp.（Rhabditida：Nematoda）from India：separation of *Heterorhabditis* spp. by infective juveniles. *Fundam*. *Appl*. *Nematol*.，15（5）：467 – 472.

Powers TO，Harris TS，Hyman BC，1994. Mitochondrial DNA sequence divergence among *Meloidogyne incognita*，*Romanomermis culicivorax*，*Ascaris suum* and *Caenorhabditis elegans*. *J*. *Nematol*.，26（4）：564 – 572.

Powers TO，Todd TC，Burnell AM，Muray PCB，Fleming CC，Szlanski AL，Adams BA，Harris TS，1997. The rDNA internal transcribed spacer region as a taxonomic marker for nematodes. *J*. *Nematol*.，29（4）：441 – 450.

Qiu L，Fang YU，Zhou Y，Pang Y，Nguyen KB，2004. *Steinernema guangdongense* sp. n.（Nematoda：Steinernematidae），a new entomopathogenic nematode from southern China with a note on *S*. *serratum*（nomen nudum）. *Zootaxa*，704（1）：1 – 20.

Qiu L，Hu X，Zhou Y，Mei S，Nguyen KB，Pang Y，2005a. *Steinernema akhursti* sp. n.（Nematoda：Steinernematidae）from Yunan，China. *J*. *Invertebr*. *Pathol*.，90（3）：151 – 160.

Qiu L，Hu X，Zhou Y，Pang Y，Nguyen KB，2005b. *Steinernema beddingi*

n. sp.（Nematoda：Steinernematidae），a new entomopathogenic nematode from Yunnan，China. *Nematology*，7(5)：737－749.

Qiu L，Yan X，Nguyen KB，Pang Y，2005c. *Steinernema aciari* sp. n.（Nematoda：Steinernematidae），a new entomopathogenic nematode from Guangdong，China. *J. Invertebr. Pathol.*，88(1)：58－69.

Qiu XH，Han RC，Xu ZF，2003. rDNA ITS polymorphism analysis of entomopathogenic nematodes. *Natural Enemies of Insects*，25(3)：130－144.［**丘雪红，韩日畴，许再福**，2003. **昆虫病原线虫** rDNA **多态性分析**. **昆虫天敌**，25(3)：130－144］

Regeai SO，Browne JA，Burnell AM，2004. Assessment of intra strain genetic polymoprhisms in the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. Rome Italy：Proceedings of XXVII European Society of Nematology International Symposium. 14－18.

Reid AP，1994. Molecular taxonomy of *Steinernema*. In：Burnell AM，Ehlers RU，Mason JP eds. Genetics of Entomopathogenic Nematode-Bacterium Complexes. Luxembourg：European Commission Luxembourg City. 49－58.

Reid AP，Hominick WM，1992. Restriction fragment length polymorphisms within the ribosomal DNA repeat unit of British entomopathogenic nematodes（Rhabditida：Steinernematidae）. *Parasitology*，105(4)：317－323.

Reid AP，Hominick WM，Briscoe BR，1997. Molecular taxonomy and phylogeny of entomopathogenic nematode species（Rhabditida：Steinernematidae）by RFLP analysis of the ITS region of rDNA repeat unit. *Syst. Parasitol.*，37(3)：187－193.

Román J，Figueroa W，1994. *Steinernema puertoricensis* n. sp.（Rhabditida：Steinernematidae），a new entomopathogenic nematode from Puerto Rico. *J. Agri. Univ. Puerto Rico.*，78：167－175.

Semblatt JP，Wajnberg E，Dalmasso A，Abad P，Castagnone-sereno P，1998. High-resolution DNA fingerprinting of parthenogenetic root-knot nematodes using AFLP analysis. *Mol. Ecol.*，7(1)：119－125.

Sha CY，1985. Comparative analysis on esterase isozymes of the insect parasitic nematodes of the genus *Neoaplectana*. *Acta Zootaxonomica Sinica*，10(3)：246－249.［**沙槎云**，1985. **昆虫寄生性线虫新线虫属酯酶的比较分析**. **动物分类学报**，10(3)：246－249］

Shahina F，Anis M，Reid AP，Rowe JA，Maqbool MA，2001. *Steinernema pakistanense* sp. n.（Rhabditida：Steinernematidae）from Pakistan. *Int. J. Nematol.*，11(2)：124－133.

Shamseldean MM，Abou El-Sooud AB，Abd-Elgawad MM，Saleh MME，1996. Identification of a new heterorhabditid species from Egypt，*Heterorhabditis taysearae*，n. sp.（Rhabditia：Heterorhabditidae）. *Egypt. J. Biol. Pest Control*，6(1)：15－24.

Shapiro DI，Glazer I，Segal D，1997. Genetic diversity in wild and laboratory populations of *Heterorhabditis bacteriophora* as determined by RAPD-PCR analysis. *Fundam. Appl. Nematol.*，20(6)：581－585.

Shapiro-Ilan DI，Gouge DH，Koppenhöfer AM，2002. Factors affecting commercial success：case studies in cotton，turf and citrus. In：Gaugler R ed. Entomopathogenic Nematology. New York：CAB International. 333－356.

Shen CP，Wang GH，1991. Description and studies of an entomopathogenic nematode：*Steinernema longicaudum* sp. nov. In：Proceedings of the First National Academy Symposium. Beijing：China Science and Technology Press. 220－231.［**沈长朋，王国汉**，1991. **昆虫病原斯氏线虫属一新种及其研究**. **见：全国中青年植保科技工作者学术讨论会论文集**. **北京：中国科技出版社**. 220－231］

Spiridonov SE，Krasomil-Osterfeld K，Moens M，2004. *Steinernema jollieti* sp. n.（Rhabditida：Steinernematidae），a new entomopathogenic nematode from the American Midwest. *Russ. J. Nematol.*，12(1)：85－95.

Stack CM，Easwaramoorthy SG，Metha UK，Downes MJ，Griffin CT，Burnell AM，2000. Molecular characterization of *Heterorhabditis indica* isolates from India，Kenya，Indonesia and Cuba. *Nematology*，2(5)：477－487.

Steiner G，1923. *Aplectana kraussei* n. sp.，eine in der Blattwespe *Lyda* sp. parasitierende Nematodenform，nebst Bomerkungen uber das Seitenorgan der parasitischen Nematoden. *Zentr. Bakteriologie Parasitenkunde Infektionsdrankheiten Hygiene Abteilung I Originale*，59(1)：14－18.

Steiner G，1929. *Neoaplectana glaseri* n. g.，n. sp.（Oxyuridae）a new nemic parasite of the Japanese beetle（*Popillia japonica* Newm.）. *J. Washington Acad. Sci.*，19：436－440.

Stock SP，Strong D，Gardner SL，1996. Identifcation of *Heterorhabditis*（Nematoda：Heterorhabditidae）from California with a new species isolated from the larvae of the ghost moth *Hepialis californicus*（Lepidoptera：Hepialidae）from the Bodega Bay Natural Reserve. *Fundam. Appl. Nematol.*，19(6)：585－592.

Stock SP，Choo HY，Kaya HK，1997. An entomopathogenic nematode，*Steinernema monticolum* sp. n.（Rhabditida：Steinernematidae）from Korea with a key to other species. *Nematologica*，43(1)：15－29.

Stock SP，Somsook V，Reid AP，1998. *Steinernema siamkayai* n. sp.（Rhabditida：Steinernematidae），an entomopathogenic nematode from Thailand. *Syst. Parasitol.*，41(2)：105－113.

Stock SP，Campbell JF，Nadler SA，2001. Phylogeny of *Steinernema* Travassos，1927（Cephalobina：Steinernematidae）inferred from ribosomal DNA sequences and morphological characters. *J. Parasitol.*，87(4)：877－889.

Stock SP，Griffin CT，Burnell AM，2002. Morphological characterisation of three isolates of *Heterorhabditis* Poinar，1976 from the 'Irish group'（Nematoda：Rhabditida：Heterorhabditidae）and additional evidence supporting their recognition as a distinct species，*H. downesi* n. sp. *Syst. Parasitol.*，51(1)：95－106.

Stock SP，Koppenhöfer AM，2003. *Steinernema scarabaei* n. sp.（Rhabditida：Steinernematidae），a natural pathogen of scarab beetle larvae（Coleoptera：Scarabaeidae）from New Jersey，USA. *Nematology*，5(2)：191－204.

Stock SP，Griffin CT，Chaerani R，2004. Morphological and molecular characterisation of *Steinernema hermaphroditum* n. sp.（Nematoda：Steinernematidae），an entomopathogenic nematode from Indonesia，and its phylogenetic relationships with other members of the genus. *Nematology*，6(3)：401－412.

Stock SP，2005. Insect-parasitic nematodes：more than model organisms. *J. Invertebr. Pathol.*，89(1)：57－66.

Stock SP，Hunt DJ，2005. Nematode morphology and systematics. In：Grewal PS，Ehlers RU，Shapiro-Ilan DI eds. Nematodes as Biological

Control Agents. Wallingford：CAB International. 3 – 43.

Sturhan D，Spiridonov SE，Mrúek Z，2005. *Steinernema silvaticum* sp. n. (Rhabditida：Steinernematidae)，a new entomopathogenic nematode from Europe. *Nematology*，7(2)：227 – 241.

Szalanski AL，Taylor DB，Mullin PG，2000. Assessing nuclear and mitochondrial DNA sequence variation within *Steinernema* (Rhabditida：Steinernematidae). *J. Nematol.*，32(2)：229 – 233.

Tallosi B，Peters A，Ehlers RU，1995. *Steinernema bicornutum* sp. n. (Rhabditida：Steinernematidae) from Vojvodina，Yugoslavia. *Russ. J. Nematol.*，3(1)：71 – 80.

Travassos L，1927. Sobre o genera *Oxysomatium*. *Boletim Biol.*，5(1)：20 – 21.

Triggiani O，Mrúcek Z，Reid A，2004. *Steinernema apuliae* sp. n. (Rhabditida：Steinernematidae)：a new entomopathogenic nematode from southern Italy. *Zootaxa*，460(1)：1 – 12.

van der Beek JG，Folkertsman R，Zijlstra C，van Koert PHG，Poleijl M，Bakker J，1998. Genetic variation among pathogenetic contrasted to morphology. *Fundam. Appl. Nematol.*，21(4)：401 – 411.

Waturu CN，Hunt DJ，Reid AP，1997. *Steinernema karii* sp. n. (Nematoda：Steinernematidae)，a new entomopathogenic nematode from Kenya. *Int. J. Nematol.*，7(1)：68 – 75.

Whitkus R，Doebley J，Wendel JF，1994. Nuclear DNA markers in systematics and evolution. In：Phillips L，Vasil IK eds. DNA-Based Markers in Plants. Dordrecht，The Netherlands：Kluwer Academic Publishers. 116 – 141.

Wouts WM，Mrúcek Z，Gerdin S，Bedding RA，1982. *Neoaplectana* Steiner，1929，a junior synonym of *Steinernema* Travassos，1927 (Nematoda：Rhabditida). *Syst. Parasitol.*，4(2)：147 – 154.

Xu ZF，Wang GH，Li XF，1991. A new species of the genus *Steinernema* (Rhabditida：Steinernematidae). *Zoological Research*，12(1)：17 – 20. [许再福，王国汉，李小峰，1991. 斯氏线虫的一新种(小杆目：斯氏线虫科). 动物学研究，12(1)：17 – 20]

Yoshida M，2004. *Steinernema litorale* n. sp. (Rhabditida：Steinernematidae)，a new entomopathogenic nematode from Japan. *Nematology*，6(6)：819 – 838.

Zhang ZY，Liu NX，1990. The identification of the *Steinernema* species by the cross-breeding method. *Natural Enemies of Insects*，12(4)：167 – 173. [张振英，刘南欣，1990. 应用交叉繁殖技术鉴别斯氏线虫属的种类. 昆虫天敌，12(4)：167 – 173]

Zhou Y，Jian H，Wang ZK，2002. RAPD analysis of strains of *Steinernema carpocapsea*. *Acta Parasitologica et Medica Entomologica Sinica*，9(2)：5 – 91. [周燚，简恒，王中康，2002. 小卷蛾斯氏线虫不同品系 RAPD 分析及亲缘关系研究. 寄生虫与医学昆虫学报，9(2)：85 – 91]

（责任编辑：黄玲巧）